



TITLE:

食道癌の実験的研究 第1編 家兎 Vx2癌による食道癌モデルの作成と その観察

AUTHOR(S):

斎藤, 信雄

CITATION:

斎藤, 信雄. 食道癌の実験的研究 第1編 家兎Vx2癌による食道癌モデルの作成とその観察. 日本外科宝函 1984, 53(1): 157-170

ISSUE DATE:

1984-01-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/208745>

RIGHT:

食道癌の実験的研究

第1編 家兎 Vx2 癌による食道癌モデルの作成とその観察

京都大学医学部外科学教室第2講座（指導：日笠頼則教授）

斎 藤 信 雄

〔原稿受付：昭和58年10月14日〕

Experimental Studies of Esophageal Cancer

1. Production and Observation of an Experimental Model of Esophageal Cancer by Vx2 Carcinoma

NOBUO SAITO

The 2nd Department of Surgery, Faculty of Medicine, Kyoto University
(Director: Prof. Dr. YORINORI HIKASA)

The treatment of esophageal cancer has made less progress toward reducing that cancer than the treatment of cancers of other digestive organs. The disparity in the progress of treatment is due to the unique anatomical location of the esophagus over neck, thorax, and abdomen, and the great variety of tumor growth and metastasis. In the face of these two problems it becomes necessary to observe the growth of the tumor in the wall of the esophagus.

Vx2 carcinoma was implanted in the wall of the esophagus of rabbits. They were dissected at intervals of several days. The proliferation and metastasis of the carcinoma were histologically observed, and the following results were obtained.

Based on the obtained results, the author concludes there are several possibilities of therapeutic applications in addition to clinical application in this cancer model.

1. Tumor proliferation
 - a Vertical extent increases when compared to previous days.
 - b Depth of invasion reaches the next layer weekly, but it has no tendency to reach the superficial layer.
 - c 100% ulceration occurs within 16 days in every case subsequent to implantation in the submucosa, and the proliferation is always found on the margin of the ulcer.
2. Organ metastasis

Key words: Vx2 carcinoma, Esophageal cancer model, Cancer metastasis, Esophageal cancer, Growth of the tumor.

索引語：Vx2 カルチノーマ，食道癌モデル，癌転移，食道癌，腫瘍増殖。

Present address: Department of Surgery, Kyoto Minami Teishin Hospital, 1 Nanden cho, Nishi 9 jo, Minami-ku Kyoto city.

- a Organ metastases are first observed within 21 days from implantation and are 100% complete within 30 days.
- b Organ metastases are found in 100% of lungs, 38% of livers, 23.8% of kidneys, and in lesser percentages in the adrenal gland, thyroid gland, myocardium, stomach, and diaphragm.
- c Location of tumors makes no difference in organ metastasis, but abdominal esophageal tumor seems to cause liver metastasis, compared with other parts of the esophagus.
- d Organ metastases are not found in the case of less than 20 mm of vertical extent and a₀ depth of invasion.

3. Lymph node metastasis

- a Lymph node metastases are first found within 10 days from implantation, and are 100% complete within 16 days.
- b The number of metastatic lymph nodes increases rapidly after 3 weeks.
- c Lymph node metastases are detected in almost every case of more than 15 mm of vertical extent.
- d Up to 3 weeks, tumors of the abdominal esophagus have higher density of lymph node metastases. After 3 weeks, the density of lymph node metastases tends to be higher as the location of the tumors on the esophagus becomes lower.
- e Tumors of the cervical esophagus metastasize to cervical and thoracic lymph nodes at almost the same rate.
- f Tumors of the upper thoracic esophagus metastasize to thoracic lymph nodes at first, subsequently to cervical and at last to abdominal.
- g Tumors of the lower thoracic esophagus metastasize to thoracic lymph nodes at first, subsequently to abdominal, and at last to cervical lymph nodes.
- h Tumors of the abdominal esophagus metastasize to abdominal and lower thoracic lymph nodes at almost the same rate.

I. 序

今日に於ても食道癌の治療成績は他の消化器癌に比して、未だ著しく遅れていると言わざるを得ない^{10,21,32,39)}。これは頸・胸・腹部にまたがる解剖学的位置的特殊性による治療の困難性と共に、これに伴う腫瘍発育及び転移の多様性、広範性にも負う所が大である。この意味で食道癌の増殖進展の経過を実験的に観察することは甚だ重要なことと考えられる。

著者は扁平上皮癌の一つで可移植性実験腫瘍である Vx₂ 癌を家兎食道壁に移植し、食道癌モデルを作成した。本モデルについて腫瘍増殖、転移形式を観察し、臨床例の病態把握に資すると共に、各種治療実験への応用の可能性を検討した。

II. 方法及び材料

1) 動物、腫瘍

実験動物には白色家兎 2.0 kg~2.8 kg 63羽を使用した。

Vx₂ 癌は昭和48年愛知ガンセンターより提供された第122代 (Rous 以来288代) より継代維持し、130代から149代のものを使用した。

継代移植は4週間毎とし、白色家兎大腿筋を用いた。生着、増殖率は100%で、自然退縮を来した例は認めなかった。

2) 腫瘍細胞浮遊液の作成

大腿筋肉中で増殖せる腫瘍を摘出し、壊死部分を取り除き、健常部を採って Hanks 液中にて洗浄、細切

する。これを市販の茶漉で更に磨碎、濾過し、800回転、5分間遠沈する。sediment 容量1に対して Hanks 液4を加えて20%浮遊液とする。これを原液として0.5 mlを継代移植に使用し、残りを2枚ガーゼにて濾過したものを本実験に使用した。この様にして作成された細胞浮遊液は単独細胞と、10数個の細胞からなる cluster を含んでいる。Tripa blue 染色¹²⁾によってその生細胞数は 2.5×10^3 個/mm³ から 6.5×10^3 個の間にあり、平均 5.0×10^3 個/mm³ であることを確認した。

食道壁内への移植は、平均移植細胞数が、 2.5×10^5 個となる様にした。

3) 移植手技

家兎を nembutal® 25 mg/kg の静注により麻酔した。頸部・腹部食道壁内には手術的に穿刺注入した。可能な限り周囲組織の剝離を避けて食道に到達し、27G ツベルクリン針にて壁外より直接穿刺し細胞浮遊液を注入した。壁外への液の漏出は、針穴を小ピンセットで数10秒間把持することで防止できた。

胸部食道壁内移植には図1の如き、外径6 mm、内径4 mm の真鍮管に側孔を穿ち、その反対側に小電球を取り付けた硬性食道鏡を作成した。この食道鏡を挿入し、側孔へ嵌入してきた食道壁を側方から長針で直接穿刺注入した。確実な注入は局所の粘膜下膨隆の為、食道壁の呼吸性動揺が著しく制限されることから確認された。

尚、粘膜穿孔孔からの浮遊液の漏出による消化管内腔内移植の可能性は以下の予備実験によって否定した。即ち家兎4羽に対し内視鏡下に食道粘膜を損傷し、出血を確認後、同部に Vx₂ 浮遊液 0.1 ml を散布したが、食道及び全消化管に腫瘍の生着、増殖は全く認められなかった。

注入針の方向は、腹部においては口側で、その他の部位では肛側へ向けて注入したこととなる。

4) 観 察

3～7日毎に nembutal® の過量投与により屠殺剖検した。頸・胸・腹部の全臓器にわたって転移の有無を肉眼的に精査し、必要に応じてルーペ観察を行い、

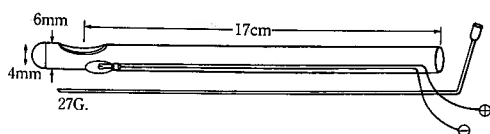


図1 新しく作成した家兎用硬性食道鏡

疑わしき病巣は組織標本とした。後咽頭リンパ節から頸部・胸部・上腹部リンパ節は可能な限り摘出し、全てを組織標本とした。顎下・腋窩・上腸間膜動脈部以下のリンパ節は疑わしきもののみを組織標本とした。食道壁の腫瘍の大きさと、拡がりを肉眼的に観察記録した後、10%ホルマリンにて固定した。組織標本として H.E. 染色、一部 elastica van Gieson 染色を施した。観察期間中に死亡せるものも同様に処置し、死因を検討した。尚、頭蓋内、骨転移に関しては検索していない。

III. 結 果

1) 実験例数と腫瘍死

頸部食道壁(以下 Ce と略す)移植14羽、上胸部食道壁(以下 Iu と略す)(気管分岐部より口側)へ13羽、下胸部食道壁(以下 Im-Ei と略す)(気管分岐部より肛側)へ26羽、腹部食道壁(以下 Ea と略す)へ10羽、計63羽を検索の対象とした(表1)。

移植後経過観察中に死亡した例が12例あり、第2週までに死亡した3例は食道壁内に腫瘍形成を明らかに認めるが、肺炎、腹腔内感染による炎症死と考えられた。16日以後に死亡した9例は全て腫瘍死と考えられ、内、16日、24日で死亡した2例はいずれも腫瘍の局所的原因(気管圧迫)によるものであり、28日以後の死亡7例は全て著明な肺転移巣が認められた。特にその内3例は全身転移といってよい状態であった。

2) 移植率

手術的移植24例、内視鏡下移植39例の内、粘膜下に主腫瘍の存在しなかった例が各々2例と9例あった。即ち粘膜下への移植成功率は手術的移植91.7%、内視鏡下移植76.9%、平均82.5%であった。移植層をより明確にする為に局所組織所見から以下の4 groupに分けることができる(図2)。

即ち、group 1 は粘膜下に腫瘍が存在し、長軸方向の腫瘍先進部が粘膜下又は筋層内にあるもの。group 2 は粘膜下に腫瘍が存在し、長軸方向の腫瘍先進部が上下両方又は一方が壁外にあるもの。group 3 は粘膜下に腫瘍が存在せず、筋層より外にあるもの。group 4 は、外膜層より外に腫瘍のあるもの。group 1 を粘膜下への移植成功例とすると44.4%の移植率であり、手術的移植45.8%、内視鏡移植43.6%であった。

3) 腫瘍増殖と転移

a) 長 径

表1 実験例数

部位 \ 日	3-7日	10-14	16-21	24-28	30-37	計
頸部 (Ce)	0	4	4	5	1 (1)	14 (1)
上胸部 (lu)	1 (1)	1	5 (1)	3 (1)	3 ^{内1} _{50日} (3)	13 (6)
下胸部 (lm-Ei)	2	10	5	7 (2)	2 (1)	26 (3)
腹部 (Ea)	2 (2)	2	3	2	1	10 (2)
計	5 (3)	17	17 (1)	17 (3)	7 (5)	63 (12)

() 死亡例

新鮮食道標本を正常状態に伸展固定して、最大長径をツ反判定用ノギスにて計測した。壁外に殆どどの腫瘍の存在する例 (group 4, group 3 の一部) を除いて、日数毎に群別を行った (図3)。

移植後4~6日で平均3.5 mm, 7~10日で8.5 mm, 14日で16.1 mm, 16~17日で19.2 mm, 21日で24.1 mm, 24~26日で25.3 mm, 28日で35.9 mm, 30~35日で46.8 mm となる。経日的に直線の増大を示し、その相関係数は0.978 ($P<0.001$) である。

b) 横軸方向への発育

移植腫瘍の壁内外への発育を見る為には、移植腫瘍がいかなる層に移植されたかによって大きく左右される。従って先に群別した group 1, 28例について経日的深達度分布を図4に示した。深達度は食道癌取扱規約³⁶⁾に準じて粘膜下に止まるもの (sm), 筋層に止まるもの (pm), 僅かに筋層を越えるもの (a₁), 明らかに筋層を越えて外膜層に出るもの (a₂) とした。1週間までの剖検例4例は4例共に sm に止まる。1~2週間で

は sm 1例, pm 3例, a₁ 2例, a₂ 1例。2~3週では sm, pm に止まる例はなく a₁ 3例, a₂ 4例。4週では pm 1例, a₁ 1例, a₂ 以上6例であった。30日以上では全例 a₂ 以上であった。

粘膜下へ移植された腫瘍の粘膜面への発育をみる為に潰瘍形成の時期を併せて検討した (図4)。group 1 の潰瘍形成は21例, 未形成は7例であった。第1週では全例が sm に止まり、粘膜筋板は正常に保たれている。勿論潰瘍形成はない。第2週では7例中4例 (57%) に潰瘍形成を認める。潰瘍を形成しない例は粘膜筋板の破壊のない1例 (10日), 粘膜筋板は破壊され一部粘膜に浸潤の及ぶものが2例 (14日) であった。第3週以後は100%に潰瘍形成を認める。潰瘍形成例はいつでも粘膜表層にまで癌細胞の増殖を認める。

c) 経日的リンパ節転移 (表2)

移植9日目までは転移を認めなかった。10日目では5例中2例 (40%) に転移を認めた。2週間で12例中8

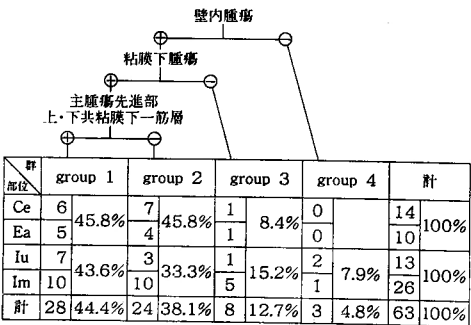


図2 移植率

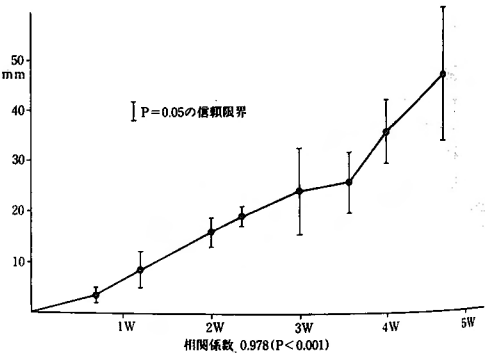


図3 長径と日数

group 1						
B 深達度		3-7	10-14	16-21	24-28	35-37
a ₂ ↑			●	●●●●	●●●●●	●●
a ₁			● ●	●●●	●	
Pm			● ○ ○		●	
Sm		○○○○	○			
潰瘍形成		0	57%	100%	100%	100%

○潰瘍なし ●潰瘍形成
図4 深達度、潰瘍形成

列 (66.7%)。16日以後では41例全例にリンパ節転移を認めた。

転移陽性例の1羽当りの平均転移リンパ節数は17日までの例では平均2.0個、21日以後の例では4.0個から5.6個へと漸増する。21日を境にして転移陽性例のリンパ節転移度（全郭清リンパ節数に対する全転移陽性リンパ節数）は、21日以前は200個中32個で16%、21日以後は371個中136個で37%となる。

d) 経日的臓器転移（表3）
63例中21例に臓器転移を認めた。20日以前に転移を来した例はなく、21日に於て初めて肺転移を認めた（22%）。28日では11例中10例（91%）に臓器転移を来し、30日以後の例では、全例に陽性であった。転移臓器は肺が最も多く21例中21例、次いで肝転移8例

（38.1%）、腎転移5例（23.8%）、胃壁、心筋各2例（9.5%）、その他、副腎、甲状腺、横隔膜筋肉部へ各1例であった。

e) 長径、深達度と転移
group 1, 28例の長径・深達度・転移の有無を図5に示した。深達度 sm では平均長径 4.5 mm, pm では 14 mm, a₁ では 16.3 mm, a₂ では 27.9 mm となる。

リンパ節転移は pm 例で 50%, a₁ で 86%, a₂ で 92%となる。臓器転移は, sm, pm では 0%, a₁ では 14%, a₂ で 50%となる。

長径 15 mm 以上の例は全例リンパ節転移陽性である。一方, group 1, 2, 3, 4 全例中長径 15 mm 以上が 47例あり, その内46例がリンパ節転移陽性であった。更に臓器転移を来した21例は全て 20 mm 以上であった。

4) 移植部位別転移

a) 臓器転移（表4）
Ce 移植例では5例に臓器転移を有し、5例共に肺転移を認め、内1例に肝・腎転移を伴った。
Iu 移植例では6例中6例に肺転移を認め、その内3例は各々、肝、腎・横隔膜、腎に転移が重複していた。
Im-Ei 移植例では8例に肺転移を来し、その内3例

表2 経日的リンパ節転移

日 数	3-9	10	14	16-17	20-21	24	26-28	30~	計
例 数 (転移例/全例)	0/5	2/5	8/12	7/7	10/10	5/5	12/12	7/7	51/63
転 移 率 (%)	0	40	66.7	100	100	100	100	100	
平均転移リンパ節数(個)	0	2.0	2.1	1.9	4.0	4.6	4.9	5.6	

表3 経日的臓器転移

日 数	3-9	10-14	16-20	21	24	26-28	30~	計
例数(転移例/全例)	0/5	0/17	0/8	2/9	1/5	11/12	7/7	21/63
転 移 率 (%)	0	0	0	22.2	20	91.7	100	(33.3)
転 移 臓 器 () 例 数				肺(2)	肺(1) 肝(1) 甲状腺(1)	肺(11) 肝(4) 腎(2) 心筋(1) 胃(1)	肺(3) 肝(3) 腎(3) 副腎(1) 心筋(1) 胃(1)	

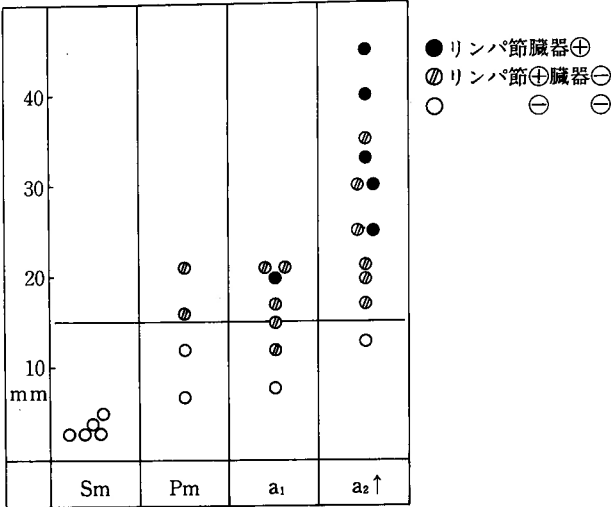


図5 長径・深達度と転移

に、肝・甲状腺、肝・腎・心筋・胃壁、肝・腎・心筋・副腎・胃壁への転移が重複していた。

Ea 移植例では2例のみに臓器転移を認め、2例共に肺・肝への転移巣を認めた。

b) リンパ節転移

食道癌取り扱い規約³⁶⁾に準じて、家兎の食道関連リンパ節を63例の剖検結果より、図6の様にまとめた。各リンパ節番号は取り扱い規約と同じリンパ節名を表わすが、一部変更を加えた。即ち101番、105番は、気管傍リンパ節を合せて表現し、106番は上気管気管支リンパ節を表わすこととした。112番は上胸部傍大動脈リンパ節のみを表わし、110番が下胸部傍食道リンパ節と後縦隔リンパ節を表わすこととした。更にASM (Anterior Superior Mediastinum) は前上縦隔リンパ節を表わす。

表4 移植部位別臓器転移

移植部位	例数 (羽)	転移臓器(日数)
Ce	5	肺(21, 28, 28, 35), 肺 肝 腎(28)
lu	6	肺(28, 28, 37), 肺 肝(28), 肺 腎(28), 肺 肝 腎 横隔膜(50)
lm-Ei	8	肺 (21, 26, 28, 28, 34) 肺 肝 甲状腺(24) 肺 肝 腎 心筋 胃(28) 肺 肝 腎 副腎 心筋 胃(35)
Ea	2	肺 肝 (28, 31)

各移植部位別に、各々のリンパ節に転移を認めた例数は図7、8、9、10に示した通りである。

Ce 移植例中12例(表5、図7)にリンパ節転移を認め、この内、頸部リンパ節にのみ止まる例が4例、残る8例は全て縦隔内リンパ節に転移が及んでいた。20日以前の早期例のみでは4例中2例が頸部に止まるのみであった。

転移リンパ節の分布は、気管分岐部リンパ節、肺門リンパ節までに止まり、腹腔内への転移は認めなかった。転移密度の高いリンパ節は106、101、104、(100)、103、105であった。

Iu 移植例12例(表6、図8)中、縦隔内リンパ節に止まる例が8例、残る4例中1例が腹腔内へ転移し、3例が頸部リンパ節へ転移を来すが、頸・胸・腹に同時にまたがる転移を来した例はなかった。20日以前の例では、4例中1例のみが頸部リンパ節転移を来した。転移密度の高いリンパ節は106、105、(ASM)、104、112であった。

Im-Ei 移植例21例(表7、図9)、中縦隔内リンパ節に止まる例が12例、残る9例中腹腔内転移を来した例が7例、頸部リンパ節転移4例、頸・胸・腹にまたがって2例が転移を来した。20日以前の例では全例が縦隔内リンパ節に止まっていた。転移密度の高いリンパ節は106、105、112、110、104、傍噴門リンパ節であった。

Ea 移植例6例(表8、図10)では腹腔内リンパ節に止まる例はなかった。全例が縦隔内リンパ節転移を

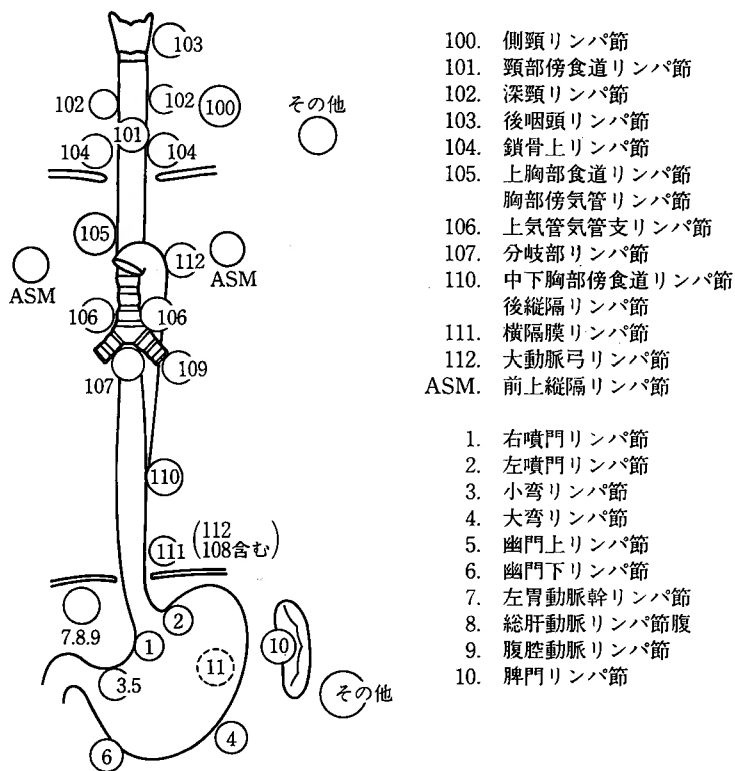


図6 家兔食道関連リンパ節

表5 頸部食道癌のリンパ節転移

[illegible]

表6 上胸食道癌のリンパ節転移

RN	リンパ節 日	頸 部					上 胸 部					中 下 胸 部				腹 部			その他
		100	101	102	103	104	105	106	107	109	112	asm	108	110	111	112	1	2	
1	14					●					●								
2	16							●				●							
3	17						●												
4	17							●											
								●											
5	21						●	●											
6	21											●							
7	28						●											●	
8	28		●			●	●	●	●										
9	28					●					●								
						●													
10	30							●			●	●							
								●											
11	37							●											
12	50									●		●							

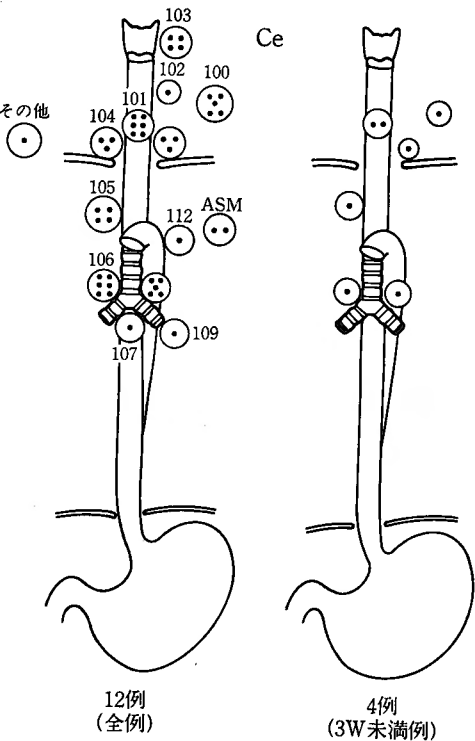


図7 頸部食道癌のリンパ節転移

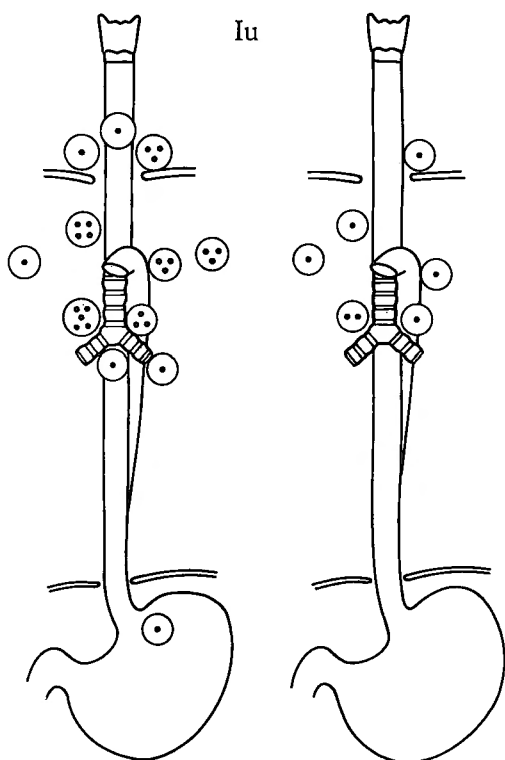
伴う。拡がりには前上縦隔リンパ節、上気管気管支リンパ節に達するが、頸部リンパ節への転移例はなかった。転移密度の高いリンパ節は1, 2, 7, 110, 106で、特に傍噴門リンパ節へは100%の転移を示す。

IV. 考 察

1) 方法について

Vx₂ 癌は1952年、P. Rous 以来300代以上にわたって維持されてきた実験腫瘍であり、その基礎的研究^{15,17,31,43)} 実験的応用^{5,7,8,28,40,42,44,45,46)} に広く利用されてきた。従来食道癌研究の目的に、大型実験動物として犬が選ばれることが多かったが、これには適当な実験腫瘍がなく、一方、各種実験腫瘍の利用可能なmouse, rat は食道を対象臓器とするには小動物に過ぎるという欠点がある。近年発癌物質による食道癌モデルの作成が試みられてきたが^{14,16,29,34)}、発癌の部位、時期、頻度等に不確実な点が残されていると言わざるを得ない。著者はVx₂ 癌が中型実験動物である家兔の可移植性腫瘍であり、更に未分化型扁平上皮癌であること³¹⁾に注目した。

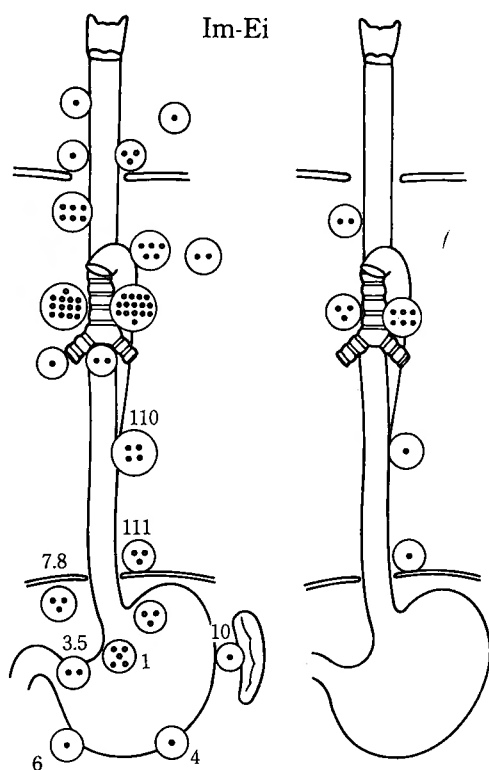
食道癌モデルの作成に当っては粘膜内移植が最良と思われるが、扁平上皮は硬く、薄く、針先を粘膜上に留めることは非常に困難である。更に粘膜面よりの接触では容易には生着しないことが予め明らかとなった



12例
(全例)

4例
(3W未満例)

図8 上胸部食道癌のリンパ節転移



21例
(全例)

8例
(3W未満例)

図9 中下胸部食道癌のリンパ節転移

ので粘膜下移植でこれを代用することとした。移植層を出来るだけ一定とする為に側孔式の硬性食道鏡を作成したが、外径6mmの食道鏡挿入時に壁厚約1.0mmの食道壁の粘膜下の方に穿刺注入することは極めて困難と考えられた。実験モデルとしてこの移植層の确实性に乏しいことは大きな制限となる。そこで本実験手技による移植実態を明らかにする為に剖検時、詳細に増殖腫瘍を観察し、特にその長軸方向断面の状態からグループ分類を行った。これはVx₂癌が元来、球状・楕円球状の発育を示すこと^{17,28)}、刺入に当って針と壁のなす角度に応じて外膜層或いは粘膜層に各々上下方向の最先端ができると推定されることから、主腫瘍の口、肛側先進部の存在部位を以て分類の基準とした。先に述べた如く粘膜面接種ができないことと併せて、事実粘膜面に最先進部を持つ例は経験されなかった。従って、粘膜下層と外膜層における腫瘍の占拠状態の分析が移植層決定の大きな要因であると結論した。この様な考え方を基にした結果を図2に示した。

移植腫瘍の実験的応用の便を図る為に粘膜下移植成功を知る手段をretrospectiveに検討した。腫瘍長径/潰瘍長径<2.0の例をとり上げると、この内77%がgroup 1に含まれ、逆にgroup 1の72%が2.0以下の値となる。3週以後の例に限るとgroup 1の78%が2.0以下の値をとり、2.0以下の値をとる82%がgroup 1の例となった。移植後レ線透視を行って比較的早くから潰瘍形成を来すもの、或いは潰瘍長径の大なるものは粘膜下移植成功例として、その後の実験的応用に利用できる。

2) 腫瘍増殖について

Dickson⁵⁾は大腸移植Vx₂癌(100万個)にて5~9週にわたって指数関数的に腫瘍容積が増大し、70±6日で腫瘍死すると述べている。長径の増大は直線的であり、よく時間因子と相関した。

壁内における腫瘍増殖は主として長軸にそった楕円球状発育を示し、横径の増大と共に食道壁は伸展して内腔の閉塞は末期に到るまでみられなかった。

表7 中下胸部食道癌のリンパ節転移

RN	リンパ節 日	頸 部					上 胸 部					中下胸部				腹 部											その他
		100	101	102	103	104	105	106	107	109	112	asm	108	110	111	112	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	
1	10							●																			
2	12										●			●													
3	14						●																				
4	14						●	●					●														
5	14							●																			
6	14							●																			
7	14							●																			
8	17							●																			
9	21						●	●		●																	
10	21					●	●	●																			
11	21							●																			
12	21							●									●	●									
13	24							●		●							●										
14	24							●				●	●											●			
15	26							●																			
16	28					●	●	●			●			●	●		●	●	●								
17	28							●															●				
18	28						●	●		●	●			●			●	●	●								
19	28							●						●													
20	34					●		●			●																
21	35	●		●		●		●			●			●	●	●	●			●	●	●			●	●	

腫瘍死は肺転移の高度進展によるものが大部分を占め、しかも5～6週で75%が死亡し、最長生存例は50日の1例のみであった。このことは食道癌の部位的悪性度を示すものと思われる。

Vargha⁴⁰⁾ は胃壁内 Vx₂ 移植を試み、胃癌モデルとしての有効性を示しているが、3週までの観察で、潰瘍形成例は少なく、腫瘍の壊死部分が露出した例にのみ粘膜浸潤を認めている。粘膜層のみの脱落は二次的に腫瘍の圧迫による栄養障害によるもので、このような例には粘膜面での癌生育は認めないと述べている。又、秋山³⁾ は胃癌の食道壁への進展形式を分析し、癌病巣の露出は粘膜直下の腫瘍の圧迫による上皮の菲薄、

萎縮により形成されると述べている。本実験モデルにおける潰瘍形成は63例中37例、group 1 では16日以後は全例に見られ、group 2 は経日的増加を示さないことから、粘膜下における腫瘍容積が潰瘍形成の大きな要因であり、既に指摘されてきた通り、局所の圧迫、循環障害により潰瘍が形成されるものと考えられる。しかし潰瘍形成例の辺縁粘膜は常に癌細胞に置換されていた。これは胃粘膜に比して扁平上皮の虚血に対する強靱さを示すものと考えられる。

3) 臓器転移について

Vx₂ 癌の大腿筋肉内移植において Y. Ito¹⁷⁾ は肺転移を3週以後に見出し、他臓器転移は腎、肝へ31日以

表8 腹部食道癌のリンパ節転移

RN	リンパ節 日	頸 部					上 胸 部					中 下 胸 部				腹 部												その他
		100	101	102	103	104	105	106	107	109	112	asm	108	110	111	112	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	
1	16												●				●					●						
2	20								●				●	●			●											
3	21							●	●				●				●		●	●	●	●		●				
4	24							●					●				●					●					●	
5	28							●					●				●	●	●				●					●
6	31							●	●		●	●	●	●			●	●			●	●	●	●		●		●

後腹膜
後肋膜

後に見出されると述べている。本実験結果においても3週で初めて肺転移を認め、他臓器に初めて転移陽性を認めたのが24日の1例のみで、他は全て4週以後であった。

Zeidman^{44,46)} は Brown-Pearce carcinoma, Walker

rat carcinoma 256, Vx₂ 癌による毛細血管、肺循環の通過性を調べて、癌腫による差違を指摘すると共に、Vx₂ 癌の難通過性を指摘している。更に朝比奈⁴⁾ は腫瘍一臓器の親和性の存在を実証しているが、Vx₂ 癌の肺転移の易形成性が示唆された。

腫瘍増殖との関係は、長径 20 mm 以下の例には臓器転移を認めず、深達度 a₀ 例にも臓器転移例はなかった。一方移植層の異なる各グループ間においても、転移時期、拡がりに差異を認めず、このことは移植後の経過時間が、臓器転移の主たる要因であることを示している。

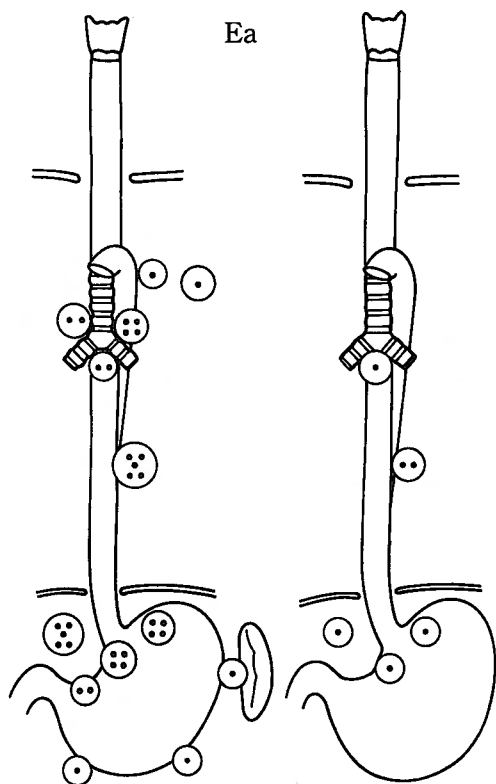
食道癌の転移臓器の拡がりに関しては多くの臨床報告があるが、佐藤³²⁾ は剖検により、肺46%、肝31%、胃13.5%、副腎11.5%、腎11.1%と記し、赤倉²⁾ はやはり剖検例において、肺・胸膜59.2%、肝40.0%、副腎20.4%、骨12.3%、腎10.2%と記している。Dormanns⁶⁾ は部位に関係なく肺・肝に多い転移を指摘しているが、三富等²⁶⁾ は上部程肺に多く、下部では肝に多いと記している。

本実験結果では移植部位による転移臓器の違いは認められず、全ての部位で肺転移のない他臓器転移はなかった。肝転移は Ce にて1/5。In で2/6。Im-Ei で3/6。Ea で2/2と下部程多くなる傾向がうかがえた。

4) リンパ節転移について

食道癌の局所療法後の予後を左右する因子の最たるものがリンパ節転移であることは、多くの人々が既に指摘している^{9,30,32,33)}。

リンパ節転移は10日で発見され、16日以後は100%の転移率を示した。個体の平均転移リンパ節数は3週を境にして飛躍的に増加した。3週以前では1個から4個までであるが、3週以後では1個の例から10個以



6例
(全例)

2例
(3W未満例)

図10 腹部食道癌のリンパ節転移

上の広範囲にわたる転移を示すものまで幅が非常に広がる。このことは時間経過による原発巣からの一次転移の増大と、一次リンパ節からの二次転移、血行性転移による増大と種々の要素を含むと考えられる。リンパ節の腫瘍転移に対する mechanical barrier としての機能に関して種々の議論はあるが、Zeidman⁴⁵⁾ は同じ Vx₂ 癌による実験で一次リンパ節から二次リンパ節への転移は3週或いはそれ以後でなければ起らないと述べている。黒川²²⁾、阿部¹⁾ は rat のリンパ管内移植により中枢リンパ管中への腫瘍細胞の出現は3日目以後であると、同様の機能を認めている。一方、Fisher⁷⁾ はその有効性に疑問を投げかけている。著者の所見では、3週で初めて臓器転移を発見すること、3週で転移リンパ節が急増すること、リンパ節転移のない臓器転移はないことから、初期におけるリンパ節の barrier としての機能は十分確認できる。

壁内腫瘍増殖とリンパ節転移の関係は、長径15mm以上の例で98%が転移陽性であり、転移陽性例で最小長径のものは10mmであった。臨床統計上、腫瘍長径、深達度等とリンパ節転移状況を検討した報告では共に腫瘍進展と平行関係にあることが指摘されている^{13,18,19,38,41)}。本実験結果はよくこれを裏付けている。

病巣の局在別リンパ節転移に関して、川口¹⁸⁾は癌腫の占拠部位が下部になる程、転移陽性症例の増加することを指摘しているが、唯、術前照射等による相対的なものであるかも知れないとしている。本実験結果による平均転移リンパ節数をみると(表9)。3週以後の例ではやはりCeを除けば下部程転移度は高い。一方、3週未満例をみると、腹部を除けば、その差は全く認められなかった。これは噴門周囲が食道壁内リンパ流の関門の1つであり、更にリンパ節の barrier としての働きを示す結果と考えられる。

部位別転移の拡がりには、白羽³⁵⁾が犬の食道壁内に注入したRISAによる実験結果により、頸部食道は、大体上胸部リンパ節まで、胸部食道は全ての胸腔内リンパ節に、特に下胸部食道は上腹部リンパ節に、また

腹部食道は胸腔内、ことに気管分岐部リンパ節と密接な関係をもっていたと述べている。実際の癌細胞の動きを示した本実験のリンパ節転移の分布は、比較적으로上記結果と一致した。即ち、頸部食道は頸部と共に上胸部リンパ節に早くから相関し、上胸部食道では、当初は胸部に拡がって止まるが、やがて頸部へ向って転移が進み、次いで腹部に及ぶ。下胸部食道ではやはり、当初は胸部に止まるが、やがて腹部へ進み、次いで頸部へ及んで広範な転移を示す。腹部では早期から腹部と共に下胸部へ転移を来した。

全ての部位で広範なリンパ節転移を示し、特に気管系リンパ節と噴門周囲リンパ節がその要に存在することを示している。これは従来述べられてきた如く^{11,20,24,25,27)} 食道の生理的リンパ流路とほぼ合致する結果を示したが、頸部・腹部移植例においては早期より胸部リンパ節への転移を来していた。このことは主として色素を用いて死体により検索されたリンパ路だけでは説明できない^{20,27)}。一方生体において造影剤、radioisotope を用いて検索された実験結果とはよく一致する^{23,33,35)}。これは癌のリンパ節転移が複雑なリンパ流の動態に左右されることを示しているものと考えられる。

V. 結 論

Vx₂ 癌を家兎食道壁内へ移植し、その腫瘍増殖、転移を組織学的に観察した。移植された腫瘍は比較的時間経過に忠実に増殖進展することが判明し、今後の各種治療実験に有用なモデルであると考えられる。

更に転移の拡がりに関して示唆に富む所見が得られた。

1. 腫 瘍 増 殖

- a) 長径は経日的に直線的増大を示す。
- b) 深達度は週単位で次層に及ぶ。
- c) 潰瘍形成は粘膜下移植例では16日以後100%であり、潰瘍辺縁には常に腫瘍増殖を認めた。

2. 臓 器 転 移

- a) 21日で初めて発見され、30日以後は100%の転移率を示した。
- b) 転移は肺100%、肝38.1%、腎23.8%、その他副腎、甲状腺、心筋、胃、横隔膜に認めた。
- c) 転移臓器の移植部位別差異を認めないが、肝転移は下部程多い傾向がうかがえた。
- d) 長径 20 mm 以下及び a₀ 例には臓器転移はなかった。

表9 移植部位別平均転移リンパ節数 (数/例)

時期 \ 部位	Ce	Iu	Im-Ei	Ea
3週未満(個)	1.8	1.8	1.8	3.5
3週以後(個)	4.4	2.5	4.7	8.0

3. リンパ節転移

- a) 10日で初めて発見され、16日以後は100%の転移率であった。
- b) 転移リンパ節数は3週を境に飛躍的に増加する。
- c) 長径 15 mm 以上では、ほぼ全例が転移陽性であった。
- d) 3週以後の転移度は腫瘍が下部にある程高い傾向を示すが、3週未満では腹部に高いが他は同率であった。
- e) 頸部移植例では頸部と共に胸部リンパ節と相関大である。
- f) 上胸部移植例では胸部に当初は止まり、やがて頸部リンパ節へ拡がり、次いで腹部へ及ぶ。
- g) 下胸部移植例では胸部に当初は止まるが、やがて腹部リンパ節へ拡がり、次いで頸部へ及ぶ。
- h) 腹部移植例では腹部と共に下胸部リンパ節と相関大である。

本論文の要旨は第77回日本外科学会総会において発表した。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲をたまわった日笠頼則教授に深甚なる謝意を表す。京都大学微生物学教室、伊藤洋平教授には Vx₂ 癌を患とまわったことを深謝する。

尚、京都市立病院外科部長間嶋正徳先生、和歌山赤十字病院外科部長長嶺慎一先生、京都大学第2外科熊田肇講師の助言に深謝する。

文 献

- 1) Abe R, et al: Lymphatic metastasis in experimental cecal cancer. Effectiveness of lymph nodes as barriers to the spread of tumor cells. *Arch Surg* **104**: 95-98, 1972.
- 2) 赤倉一郎: 現代外科学大系 32, P. 149-150, 中山書店, 1971.
- 3) 秋山 洋, 他: 胃癌の食道進展形式. *胃と腸* **7**: 801-808, 1972.
- 4) 朝比奈章悟: 少数細胞の臓器内直接移植による腫瘍-臓器相関の実験的研究. *福島医学雑誌* **17**: 65-89, 1967.
- 5) Dickson JA, et al: Total body hyperthermia versus primary tumor hyperthermia in the treatment of the rabbit Vx₂ carcinoma. *Cancer Research* **32**: 1916-1923, 1972.
- 6) Dormanns E: Des oesophaguscarcinoma Ergebniss der unter Mitarbeit von 39 pathologischen Instituten Deutschland durch geführten Erhebung über des Oesophagus carcinoma. *Z. Krebsforsch.* **49**: 86-108, 1939.
- 7) Fisher B, et al: Transmigration of lymph nodes by tumor cells. *Science* **152**: 1397-1398, 1966.
- 8) Galasko CSB, et al: Intrasarcolemmal proliferation of the Vx₂ carcinoma. *Brit. J. Cancer* **29**: 59-65, 1974.
- 9) Garlock JH, et al: The surgical treatment of carcinoma of the esophagus and cardia. *Ann Surg* **139**: 19-34, 1954.
- 10) Gunnlaugsson GH, et al: Analysis of the record of 1657 patients with carcinoma of the esophagus and cardia of the stomach. *Surg Gynec Obstet* **130**: 997-1005, 1970.
- 11) Haagensen, CD, et al: The lymphatics in cancer. p. 245-249, W. B. Saunders Philadelphia 1972.
- 12) Hoskins, JM, et al: A comparison of the method for estimating the viable count of a suspension of tumor cells. *Exper. Cell Res.* **11**: 297-305, 1956.
- 13) 井手博子, 他: 胸部食道癌のリンパ節転移. *手術* **28**: 1355-1364, 1974.
- 14) 飯塚紀文, 他: 臨床病理学研究のモデルとしての NaNO₂ と N-Methylbenzylamine 投与によるラット食道癌 第1報, 第32回日本癌学会総会記事(東京) p. 159, 1973.
- 15) 井口次夫, 他: ショーブ乳頭腫一癌腫系 Vx₂ および Vx₇ における潜在ウィルスゲノムの活性化, *医学のあゆみ* **91**: 564-565, 1974.
- 16) Ito N, et al: Histopathological and ultrastructural studies of oesophagus tumors in rats treated with N-Nitrosopiperidine. *Gann* **62**: 445-451, 1971.
- 17) Ito Y, et al: Comparative studies on pathogenesis of two strains of transplantable carcinoma of rabbits, Vx₂ and Vx₇. *Proceeding of Society for Experimental Biology and Medicine.* **127**: 1106-1111, 1968.
- 18) 川口正樹: 食道癌の臨床病理学的研究, とくにリンパ節転移を中心に. *日胸外会誌* **21**: 575-586, 1973.
- 19) 木下 敏, 他: 食道癌におけるリンパ節転移. *日胸外会誌* **18**: 302-303, 1971.
- 20) 貴志周一郎: 人食道, 胃噴門部, 区画性リンパ結節並びに悪性腫瘍転移形成に就いての2, 3の考察. *日外宝* **12**: 862-877, 1935.
- 21) 神前月郎, 他: 胃癌, 外科治療 **30**: 59-63, 1974.
- 22) Kurokawa Y: Experiments on lymphnode metastasis by intralymphatic inoculation of rat ascites tumor cells with special reference to lodgement, passage and growth of tumor cells in lymph nodes. *Gann* **61**: 461-471, 1970.
- 23) Lázló I, et al: Experimental lymphographic study of the oesophagus. *J. Laryng.* **84**: 191-202, 1972.
- 24) McCort JJ: Radiographic identification of lymphnode metastasis from carcinoma of the esophagus. *Radiology* **59**: 694-711, 1952.

- 25) Miyazaki H: Die feinere Verteilung der Lymphgefäße in der Oesophagus des Menschen. *Fol Anat Jap* **11**: 229-240, 1933.
- 26) 三富利夫, 他: 胸部食道癌の転移進展に関する検討. *日癌治会誌* **5**: 242-243, 1970.
- 27) 森 堅志: 食道及び食道のリンパ管, *気食会報* **19**: 85-98, 1968.
- 28) Muckle DM, et al: The selective inhibitory effect of hyperthermia on the metabolism and growth of malignant cells. *Brit J Cancer* **25**: 771-778, 1971.
- 29) Okajima E, et al: Effect of D1-Tryptophan on tumorigenesis in the urinary bladder and liver of rat treated with N-Nitrosodibutylamine. *Gann* **62**: 163-169, 1971.
- 30) 岡本良夫: 食道癌の術後再発と上縦隔照射, *手術* **25**: 1378-1386, 1971.
- 31) Rous P: Viruses and tumor causation an appraisal of present knowledge. *Nature* **207**: 457-463, 1965.
- 32) 佐藤 博, 他: 食道癌. *外科治療* **30**: 54-58, 1974.
- 33) 佐藤 博, 他: 胸部食道癌のリンパ節転移に関する2, 3の検討. *胸部外科* **19**: 682-686, 1966.
- 34) Schoental R, et al: Induction of squamous carcinoma of the lung and of the stomach and oesophagus by Diazomethane and N-Methyl-N-Nitrosourethan, respectively. *Brit J Cancer* **16**: 92-100, 1962.
- 35) Shiraha S: Experimental studies on the lymphatics of the esophagus from the surgical point of view. *Arch Jap Chir* **38**: 543-564, 1969.
- 36) 食道疾患研究会: 食道癌取扱い規約. 金原出版. 1975.
- 37) Stocker TAM: The effect of cortison therapy and limb exercise on the dissemination of cancer via the lymphatic system. *Brit J Cancer* **19**: 132-135, 1969.
- 38) 立花孝史: 胸部食道癌のリンパ節転移に関する臨床的並びに病理組織学的研究. *日外会誌* **72**: 891-903, 1971.
- 39) 戸部隆吉, 他: 直腸癌の統計的観察一過去42年間の統計的観察と TNM 分類の試み. *日癌治会誌* **9**: 27-38, 1974.
- 40) Vargha G, et al: Implantation of V_x2 carcinoma into the rabbit stomach. *Acta Chirurgica Academiae Scientiarum Hungaricae* **13**: 93-103, 1972.
- 41) 渡辺 寛: 食道癌の臨床病理学的研究. *日胸外会誌* **14**: 197-212, 1966.
- 42) Wood S: Experimental studies of the intravascular dissemination of ascitic Vx2 carcinoma cells in the rabbit, with special reference to fibrinogen and fibrinolytic agents. *Bull Swiss Acad Med Soc* **20**: 92-121, 1964.
- 43) Yoshida TO and Ito Y: Studies on serum complement level in rabbit bearing tumors of Shope papilloma-carcinoma complex. *Immunology* **14**: 879-887, 1968.
- 44) Zeidman I, et al: Transpulmonary passage of tumor cell emboli. *Cancer Research* **12**: 731-733, 1952.
- 45) Zeidman I, et al: Experimental studies on the spread of cancer in the lymphatic system. I Effectiveness of the lymph node as a barrier to the passage of embolic tumor cells. *Cancer Research* **14**: 403-405, 1954.
- 46) Zeidman I: Fate of circulating tumor cells III Comparison of metastatic growth produced by tumor cell emboli in veins and lymphatics. *Cancer Research* **25**: 324-327, 1965.